

## WIRUSY ŚRODOWISK EKSTREMALNYCH

Mikołaj Wołacewicz<sup>1</sup>, Dominika Bębnowska<sup>2</sup>, Rafał Hrynkiewicz<sup>2</sup>,  
Paulina Niedźwiedzka-Rystwej<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup> Student kierunku Genetyka i Biologia Eksperymentalna, Koło Naukowe Mikrobiologów, Uniwersytet Szczeciński

<sup>2</sup> Student kierunku Mikrobiologia, Koło Naukowe Mikrobiologów, Uniwersytet Szczeciński

<sup>3</sup> Instytut Biologii, Uniwersytet Szczeciński

Wpłynęło w maju, zaakceptowano w sierpniu 2019 r.

**Streszczenie:** Wirusy ekstremofilne zasiedlają nawet najbardziej nietypowe środowiska, takie jak szyby hydrotermalne zarówno podwodne jak i naziemne, pustynie, tereny subpolarne, osady dennie oraz środowiska o wysokim stopniu zasolenia. Są to głównie wirusy, zakażające bakterie (należące do rodzin *Myoviridae* oraz *Siphoviridae*) i archeony (zaklasyfikowane do rodzin *Lipothrixviridae*, *Rudiviridae*, *Yueviridae*, *Ampullaviridae*, *Globuloviridae*, *Sphaerolipoviridae*, *Bicaudaviridae*, *Fuselloviridae*, *Guttaviridae*, *Clavaviridae* oraz *Turriviridae*), z których część nie została w pełni sklasyfikowana. Ekstremowirusy posiadają materiał genetyczny głównie w postaci dsDNA, zarówno kolistego jak i liniowego, którego średnia długość waha się pomiędzy 14 do 80 kbp i jest optymalna, ponieważ nie ulega rozkładowi przez wysoką lub niską temperaturę, roztwory soli czy podwyższone ciśnienie i koduje wszystkie cechy niezbędne do funkcjonowania w ekstremalnych warunkach. Potwierdza to także o wiele wyższą oporność DNA na czynniki zewnętrzne w porównaniu z delikatnym RNA. Dalsze badania nad wirusami ekstremofilnymi mogą doprowadzić do pełnego zsekwencjonowania ich genomów, poznania genów warunkujących cechy oporności na niekorzystne warunki środowiskowe oraz przybliżyć poznanie pełnej historii ewolucji organizmów na Ziemi.

1. Wprowadzenie. 2. Wirusy ekstremalnie wysokich temperatur. 2.1. Wirusy z gorących źródeł naziemnych. 2.2. Wirusy z podwodnych szybów hydrotermalnych. 3. Wirusy terenów pustynnych. 4. Wirusy terenów subpolarnych. 5. Wirusy osadów dennych. 6. Wirusy terenów o wysokim stopniu zasolenia. 6.1. Wirusy w jeziorach słodkowodnych. 6.2. Wirusy w jeziorach alkalicznych. 7. Podsumowanie

### VIRUSES OF EXTREME ENVIRONMENTS

**Abstract:** Extremophilic viruses inhabit even the most extreme environments, such as underwater and terrestrial hydrothermal vents, deserts, subpolar areas, deep subsurface sediments, hypersaline environments, and alkaline lakes. These are mainly viruses that infect bacteria (belonging to the *Myoviridae* and *Siphoviridae* families) and archaea (classified to the families *Lipothrixviridae*, *Rudiviridae*, *Yueviridae*, *Ampullaviridae*, *Globuloviridae*, *Sphaerolipoviridae*, *Bicaudaviridae*, *Fuselloviridae*, *Guttaviridae*, *Clavaviridae*, and *Turriviridae*), some of which have not been fully classified. Extremoviruses have genetic material mainly in the form of dsDNA, both circular and linear, whose average length varies between 14 and 80 kbp and is optimal because it is not degraded by high or low temperature, salt solutions or elevated pressure, and encodes all features necessary to function in extreme conditions. This also confirms the much higher resistance of DNA to external factors compared to delicate RNA. Further studies on extremophilic viruses can lead to full sequencing of their genomes, recognition of genes determining resistance traits to unfavorable environmental conditions, and a closer understanding of the full history of the evolution of organisms on Earth.

1. Introduction. 2. Viruses of extremely high temperatures. 2.1. Viruses of hot terrestrial springs. 2.2. Viruses of deep-sea hydrothermal vents. 3. Viruses of deserts. 4. Viruses of subpolar areas. 5. Viruses of subsurface sediments. 6. Viruses of hypersaline areas. 6.1. Viruses of freshwater lakes. 6.2 Viruses of alkaline lakes. 7. Conclusions

**Słowa kluczowe:** Archeony, dsDNA, ekstremofile, wirusy ekstremofilne

**Key words:** Archaea, dsDNA, extremophile, extremoviruses

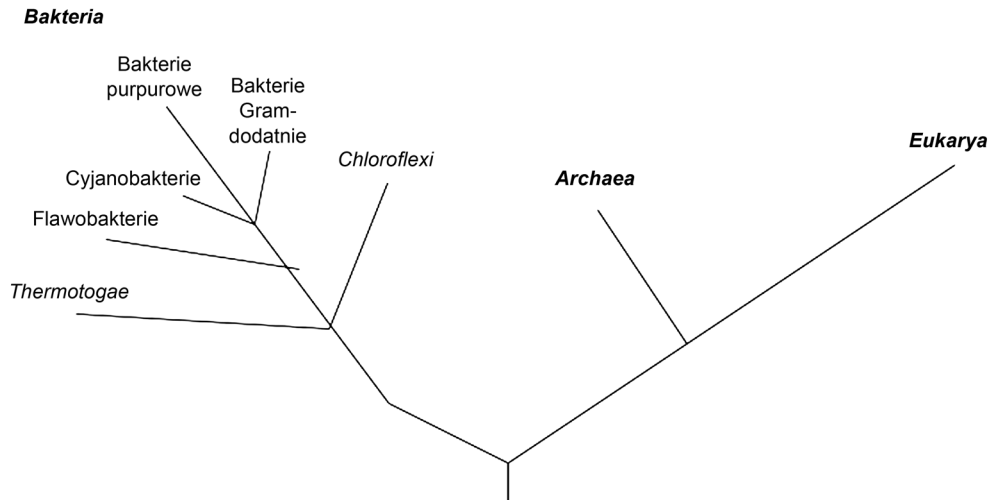
### 1. Wprowadzenie

Do ekstremofili zalicza się organizmy sklasyfikowane do trzech różnych domen: *Archaea*, *Eubacteria* oraz *Eukarya* (Ryc. 1). Są to organizmy, których właściwości fizykochemiczne umożliwiają życie oraz rozwój w warunkach granicznych dla występowania organizmów na Ziemi. Wykazano [21], że limit tolerancji ekstremofili na różne warunki środowiskowe, takie jak temperatura, pH, zasolenie, susza, ciśnienie hydrosta-

tyczne, promieniowanie oraz niedobór tlenu, znacznie przekracza zdolności przeżycia innych osobników. Organizmy te pozostają w szczególnym zainteresowaniu naukowców, służąc jako modele w badaniu i zrozumieniu budowy biochemicznej i molekularnej niezbędnej do przeżycia w takich warunkach [8].

Powszechnie wiadomo, że organizmom ze wspomnianych trzech domen, zawsze towarzyszą wirusy, stąd nie jest zaskakującym, że znajdują się one także w środowiskach ekstremalnych, będąc gospodarzami

\* Autor korespondencyjny: dr hab. Paulina Niedźwiedzka-Rystwej, prof. US, Instytut Biologii, Uniwersytet Szczeciński, Felczaka 3c, 71-412 Szczecin; tel. 91 444 15 93; e-mail: paulina.niedzwiedzka-rystwej@usz.edu.pl



Ryc. 1. Drzewo filogenetyczne trzech domen: *Bacteria*, *Archaea*, *Eukarya*

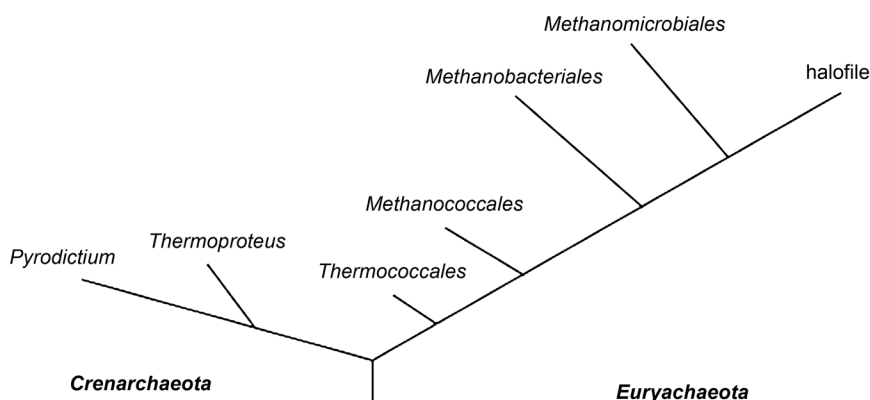
przedstawiciele zarówno domeny *Eubacteria* jak i *Archea* [26, 49].

*Archaea* są obecne na planecie od ponad 3,5 mld lat [49]. Dzieli się je na 2 grupy: *Crenarchaeota* oraz *Euryarchaeota*. Do pierwszej zalicza się rodzaje takie jak: *Pyrodictium* oraz *Thermoproteus*. Ponadto, wśród *Euryarchaeota* wyróżnić możemy następujące rzędy: *Thermococcales*, *Methanococcales*, *Methanobacteriales* oraz *Methanomicrobiales*. Dodatkowo do tego typu zalicza się również bliżej niesprecyzowane halofile (Ryc. 2).

Ich ewolucja cały czas postępuje i pomimo, iż występują także w środowiskach umiarkowanych, to nadal są uważane głównie za ekstremofile zasiedlające terytoria, których warunki fizyczne znacznie przekraczają limity przeżywalności innych organizmów [41]. Są to strefy obejmujące gejzery, bogate w siarkę źródła gorącego kwasu, dna mórz i oceanów oraz podwodne kominy hydrotermalne, wody o wysokim stopniu zasolenia, jeziora alkaliczne, a także ekosystemy ściśle beztlenowe [41]. Zasiedlenie tak nieprzystępnych miejsc jest możliwe dzięki ich niezwykłym właściwościom, specyficznej budowie oraz odporności na czynniki środowiskowe. Mikroorganizmy te są zdolne do życia

zarówno w temperaturach przewyższających 100°C, jak i tych poniżej 0°C. Wytrzymują również bardzo wysokie wartości ciśnienia hydrostatycznego na głębokościach nawet 1000 metrów pod poziomem morza, w ściśle beztlenowych warunkach. Udowodniono, że funkcjonują one także w warunkach ograniczonego dostępu do wody, takich jak pustynie; acydofile i alkalofile zasiedlają tereny, których pH osiąga wartości odpowiednio poniżej 2 lub ponad 10, w tym także środowiska wodne [17, 32]. Ze względu na złożoność warunków środowiskowych, w których organizmy te występują, można rozpatrywać je najczęściej w kontekście poliekstremofili, tj. jednoczesnej oporności na kilka niesprzyjających czynników [21].

Jak wiele innych organizmów żyjących na Ziemi, ekstremofile są gospodarzami wielu wirusów. Wirusy cechuje brak autonomiczności, czyli niezbędność koezystowania z żywicielem umożliwiającym im replikację. Z tego powodu nie są one rozpatrywane jako elementy żywe przez bardzo długi czas. Istnieją jednak dowody pozwalające twierdzić, że wirusy nie powinny być traktowane jedynie jako cząsteczki zakaźne, lecz także jako jeden z głównych składników biosfery. Suge-



Ryc. 2. Drzewo filogenetyczne *Archaea*, na podstawie Woese i wsp. [49]

ruje się, że ze względu na plastyczność genomu oraz adaptacje biochemiczne umożliwiające im życie w ekstremalnych warunkach odegrały kluczową rolę we wczesnej fazie ewolucji życia komórkowego na Ziemi [41].

Pomimo że wirusy są obecne wszędzie tam, gdzie odkrywana jest żywa materia organiczna oraz są czynnikiem spajającym trzy domeny życia, to stopień ich obecności i różnorodności nadal nie został do końca poznany. Aktualna wiedza o ilości wirusów pozwala twierdzić, że zasiedlają one wszystkie formy życia w obrębie naszej planety i stanowią rozległy rezerwuuar bioróżnorodności [5, 9, 12, 25, 40, 44, 48, 50].

## 2. Wirusy ekstremalnie wysokich temperatur

Biorąc pod uwagę trzy domeny to właśnie przedstawiciele *Archaea* są najliczniejszą grupą, którą można zaobserwować w warunkach ekstremalnie wysokich temperatur. Wśród bakterii będących gospodarzami dla wirusów spotkać można przedstawicieli termofili, natomiast wśród archeonów występują również tzw. hiperekstremofile [14]. Materiały zebrane w gorących źródłach termalnych zarówno naziemnych, jak i podziemnych pozwoliły zaobserwować ogromny rezerwuuar różnorodnych form morfologicznych oraz genomowych wirusów.

### 2.1. Wirusy z gorących źródeł naziemnych

Pierwsze badania i obserwacje form żyjących w gorących źródłach przeprowadził Wolfram Zillig w roku 1980 [21]. Materiał zebrany w Japonii, Włoszech, Nowej Zelandii, Islandii, Rosji i Stanach Zjednoczonych doprowadził do znacznego poszerzenia wiedzy o formach i różnorodności wirusów, a także posłużył do odkrycia nowych [31, 37, 38]. Stwierdzono [31], że szerokie spektrum hipertermofilowych wirusów wyizolowanych ze źródeł kwasowych oraz neutralnych z temperatur  $>80^{\circ}\text{C}$ , infekuje wielu ekstremalnie termofilowych przedstawicieli gromady *Crenarchaeaota*, w tym przedstawicieli z rodzajów *Sulfolobus*, *Thermoproteus*, *Acidianus* oraz *Pyrobaculum*. Na podstawie wyjątkowej budowy i właściwości genomowych wyodrębnione wirusy hipertermofilne zostały sklasyfikowane w 7 nowych rodzin, wśród których wyróżniamy: *Fuselloviridae*, *Lipothrixviridae*, *Rudiviridae*, *Guttaviridae*, *Globuloviridae*, *Bicaudaviridae* oraz *Ampullaviridae* (Tab. I). Wirusy zakażające archeony z gromady *Crenarchaeaota* nie wykazują wyraźnego podobieństwa morfologicznego oraz genomowego zarówno do wirusów bakteryjnych, jak i eukariotycznych [31].

Wszystkie wyizolowane dotychczas hipertermofilne wirusy zawierają liniowy lub kolisty dwuniciowy DNA, zbudowany z 15 do 75 kbp [32]. Większość tych geno-

mów została zsekwencjonowana, co w konsekwencji umożliwiło wykazanie zaskakującego zróżnicowania na poziomie genetycznym. Ustalono zaledwie kilka sekwencji komplementarnych z tymi występującymi u wirusów eukariotycznych i prokariotycznych [32]. Jedynie dla niewielu produktów białkowych kodowanych przez te sekwencje zidentyfikowano funkcje. Istnieją dowody na to, że białko płaszczowe 37-kDa wirusa STIV (*Sulfolobus turreted icosahedral virus*) z rodziny *Turriviridae* (Tab. I), może wytwarzać struktury trzecio- i czwartorzędowe podobne do białek kapsydowych wirusów zwierzęcych i bakteryjnych. Sugeruje to, że przed podziałem form życia na trzy domeny, istniał jeden wspólny przodek wszystkich wirusów [19, 39]. Brak podobieństwa morfologicznego i genetycznego w bazach danych pozwala twierdzić, że wszystkie nowo odkryte wirusy wykształciły specyficzne dla siebie mechanizmy biochemiczne umożliwiające im życie w ekstremalnych warunkach temperaturowych [32].

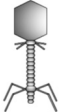
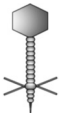











Wszystkie hipertermofilne wirusy, poza TTV1 (*Thermoproteus tenax virus 1*) z rodziny *Lipothrixviridae* oraz ATV (*Acidianus two-tailed virus*) z rodziny *Bicaudaviridae* (Tab. I), mogą przeżyć w organizmie żywiciela również w warunkach fizjologicznych. Postawiono hipotezę, że taka strategia przetrwania była dla wirusów korzystna i pomogła im uniknąć bezpośredniej ekspozycji na ciężkie warunki [30]. Wirusy te mogą osiągać liczebność milionów cząstek na milimetr kwadratowy [21]. Dodatkowo poprzez zbadanie ich oporności na obniżenie temperatury w naturalnych ekosystemach, wykazano [5], że ponad 75% wirusów, które zostały zebrane z gorących źródeł, nie uległo uszkodzeniu podczas inkubacji na lodzie, a nadto namnażały się, gdzie czas wymiany pokoleń wynosił 1–2 dni.

### 2.2. Wirusy z podwodnych kominów hydrotermalnych

Zlokalizowane głęboko pod wodą kominy hydrotermalne charakteryzują się najtrudniejszymi warunkami do życia na Ziemi. Temperatury w tych miejscach sięgają nawet  $400^{\circ}\text{C}$ , a płyny hydrotermalne mają odczyn kwasowy oraz zawierają związki chemiczne, takie jak metan, metale ciężkie oraz siarkowodor [13, 34]. W badaniach dotyczących podwodnych kominów hydrotermalnych zebrano próbki z odległych od siebie miejsc i stwierdzono nieoczekiwanie dużą liczbę ( $1,45 \times 10^5 - 9,9 \times 10^7 \text{ ml}^{-1}$ ) oraz różnorodność wirusów. Fakt ten wskazuje na namnażanie się wirusów wewnątrz tych kominów, a co za tym idzie – eliminację za ich sprawą populacji drobnoustrojów [27].

Jednymi z zaobserwowanych wirusów w tym środowisku są niesklasyfikowane PAV1 (*Pyrococcus abyssi virus 1*) oraz TPV1 (*Thermococcus puerrii virus 1*) (Tab. I). PAV1 ma wymiary wynoszące  $120 \times 80 \text{ nm}$  i jest zakończony krótkim włóknistym ogonem. Infekuje on

Tabela I  
Wirusy dsDNA infekujące bakterie i archeony środowisk ekstremalnych

| Rząd  | Rodzina   | Rodzaj  | Typowy gatunek   | Ob. osłonki |
|---|---|---|--|-------------|
| Caudovirales  | <br>Myoviridae       | <i>Myohalovirus</i>                             | <i>Halobacterium virus - phiH</i>                            | -           |
|   |   | Rodzaj niesklasyfikowany                        | <i>HF1</i>   |             |
|   |   |   | <i>HF2</i>   |             |
|   |   | <i>phiCh1</i>                                   |  |             |
|   | <br>Siphoviridae     | <i>Psimunavirus</i>                             | <i>Methanobacteriumvirus - psiM1</i>                         |             |
| Ligamenvirales  | <br>Lipothrixviridae | <i>Alphalipothrixvirus</i>                      | <i>Thermoproteus tenaxvirus 1 - TTV1</i>                     | +           |
|   |   | <i>Betalipothrixvirus</i>                       | <i>Sulfolobus islandicus filamentous virus - SIFV</i>        |             |
|   |   |   | <i>Acidianus filamentous virus 3 - SIFV3</i>                 |             |
|   |   |   | <i>Acidianus filamentous virus 6 - SIFV6</i>                 |             |
|   |   |   | <i>Acidianus filamentous virus 7 - SIFV7</i>                 |             |
|   |   |   | <i>Acidianus filamentous virus 8 - SIFV8</i>                 |             |
|   |   | <i>Acidianus filamentousvirus 9 - SIFV9</i>     |  |             |
|   | <i>Deltalipothrixvirus</i>  | <i>Acidianus filamentousvirus 2 - SIFV2</i>     |  |             |
|   | <i>Gammalipothrixvirus</i>  | <i>Acidianus filamentousvirus 1 - SIFV1</i>     |  |             |
|   | <br>Rudiviridae    | <i>Rudivirus</i>                                | <i>Sulfolobus islandicus rod-shaped virus 1 - SIRV1</i>      | -           |
| <i>Sulfolobus islandicus rod-shaped virus 2 - SIRV2</i> |   |   |  |             |
| <i>Acidianus rod-shaped virus 1</i>                     |   |   |  |             |
| Yueviridae  |                    | <i>Salterprovirus</i>                           | <i>Haloarculahispanicavirus 1 - His 1 virus</i>              | +           |
|   |   | <i>Haloarculahispanicavirus 2 - His 2 virus</i> |  |             |
| Ampullaviridae  |                    | <i>Ampullavirus</i>                             | <i>Acidianus bottle-shaped virus - ABV</i>                   |             |
| Globuloviridae  |                    | <i>Globulovirus</i>                             | <i>Pyrobaculum sphericalvirus - PSV</i>                      | +           |
|   |   |   | <i>Thermoproteus tenax spherical virus 1 - TTSV1</i>         |             |
| Sphaerolipoviridae                                      |                    | <i>Alphasphaerolipovirus</i>                    | <i>HaloarculahispanicaSH1 virus - SH1</i>                    | -           |
|   |   | <i>Betashaerolipovirus</i>                      | <i>Natrinemavirus - SNJ1</i>                                 |             |
| Bicaudaviridae  |                    | <i>Bicaudavirus</i>                             | <i>Acidianus two-tailed virus - ATV</i>                      | -           |
| Fuselloviridae  |                    | <i>Alphafusellovirus</i>                        | <i>Sulfolobus spindle-shaped virus 1 - SSV1</i>              | +           |
|   |   |   | <i>Sulfolobus spindle-shaped virus 2 - SSV2</i>              |             |
|   |   |   | <i>Sulfolobus spindle-shaped virus 4 - SSV4</i>              |             |
|   |   |   | <i>Sulfolobus spindle-shaped virus 5 - SSV5</i>              |             |
|   |   |   | <i>Sulfolobus spindle-shaped virus 7 - SSV7</i>              |             |
|   |   |   | <i>Sulfolobus spindle-shaped virus 8 - SSV8</i>              |             |
|   |   |   | <i>Sulfolobus spindle-shaped virus 9 - SSV9</i>              |             |
|   |   | <i>Betafusellovirus</i>                         | <i>Sulfolobus spindle-shaped virus 6 - SSV6</i>              |             |
|   | <i>Acidianus spindle-shaped virus 1</i>   |   |  |             |
| Rodzina niesklasyfikowana                               |   | Rodzaj niesklasyfikowany                        | <i>Pyrococcusabyssi virus 1 - PAV1</i>                       |             |
|   |   |   | <i>Thermococcus prieurii virus 1 - TPV1</i>                  |             |
| Guttaviridae  |                    | <i>Alphaguttavirus</i>                          | <i>Sulfolobus newzealandicus droplet-shaped virus - SNDV</i> | +           |
|   |   | <i>Betaguttavirus</i>                           | <i>Aeropyrumpernix ovoid virus 1 - APOV1</i>                 |             |
| Clavaviridae  |                    | <i>Clavavirus</i>                               | <i>Aeropyrum pernix bacilliform virus 1 - APBV1</i>          | -           |
| Turriviridae  |                    | <i>Alphaturrivirus</i>                          | <i>Sulfolobus turreted icosahedral virus 1 - STIV</i>        | ?           |

hipertermofilny typ *Euryarcheota* z rodziny *Thermococcales* – *Pyrococcus abyssi*. Genom PAV1 składa się z dwuniciowego kołowego DNA o długości 18 kbp, który jest obecny w dużej liczbie kopii w cytoplazmie gospodarza. Porównanie jego genomu z innymi wirusami archeonów, bakterii oraz eukariontów nie wykazało znaczących podobieństw [14, 22]. Niezmiernie interesujący jest fakt, że wszystkie do tej pory wyizolowane wirusy o kształcie cytrynowatym infekują archeony zamieszkujące tereny silnie zasolone (*Salterprovirus*) oraz naziemne gorące źródła (*Fuselloviridae*) [22, 36].

### 3. Wirusy terenów pustynnych

Życie na pustyniach również jest mocno utrudnione, nie tylko dla organizmów wielokomórkowych, ale także dla bakterii i archeonów. Niedobór wody nie jest jedyną przeszkodą, która utrudnia w tych rejonach rozwój życia. Obszary te przyjmują bowiem ogromne ilości promieniowania UV. Problematiczne jest także to, że dobowe wahania temperatur sięgają tam nawet 30–40°C. Mimo to wiele gatunków prokariotów, jak i eukariontów przystosowało się do przetrwania w tych ekstremalnych warunkach. Organizmy te zostały odkryte na wielu gorących pustyniach, m.in. na Pustyni Atakama w Chile [1, 9]. Przeprowadzono badania na powierzchniowych warstwach piasku na Pustyni Sahara na terenach Maroko i Tunezji, w których odkryto bakteriofagi z rodziny *Myoviridae*, *Siphoviridae* oraz *Podoviridae*. Wyizolowane cząsteczki dwuniciowego DNA poddano elektroforezie żelowej w polu pulsacyjnym, w efekcie czego w próbach wykryto co najmniej 4 potencjalnie nienaruszone genomy wirusowe o długości od 45 do 270 kbp [10, 35].

### 4. Wirusy terenów subpolarnych

Życie mikrobiologiczne jest także obecne w środowiskach ekstremalnie zimnych, do których zaliczyć można lodowce, polarne wieczne zmarzliny czy Suche Doliny McMurdo (McMurdo Dry Valleys, Dry Valleys of Antarctica), które tworzą najzimniejszą i najbardziej suchą pustynię na Ziemi [43]. Na Antarktydzie zarówno drobnoustroje prokariotyczne, jak i mikro-eukarioty rozwijają się w lodzie morskim czy w lodowatej wodzie [47]. Dostępne są badania wykazujące obecność wirusów w tym środowisku, a także związek między namnażaniem wirusów i bakterii w Arktycznym i Antarktycznym lodzie morskim oraz w wiecznie oblodzonych jeziorach w Dolinie Taylora (Taylor Valley) na Antarktydzie. Ilość wirusów odkrytych w Arktycznym lodzie morskim jest zaskakująco wysoka, a także od 10 do 100 razy większa od ich koncentracji

w toni wodnej [47]. Różnica ta związana jest z wysoką obfitością bakterii w lodzie w porównaniu do ich ilości w wodzie. Ponadto stosunek ilości wirusów do bakterii był najwyższym odnotowanym w środowiskach naturalnych i dostarczył informacji o wpływie wirusów na dynamikę rozwoju kultur bakterii [24].

Z próbek pobranych z lodu morskiego w północno-zachodniej części archipelagu Svalbard, wyizolowano i scharakteryzowano 3 wirusy, dla których gospodarzami są bakterie krioofilne, najbliższe spokrewnione z *Shewanella frigidimarina* (rodzina – *Schwanellaceae*), *Flavobacterium hibernum* (rodzina – *Flavobacteriaceae*) oraz *Colwellia psycherythrae* (rodzina – *Colwelliaceae*). Zauważono, że odkryte 3 gatunki fagów wykazywały jeszcze większą tolerancję na niską temperaturę, niż ich gospodarze. Co więcej, ich rozwój był ograniczony maksymalną tolerancją na zimno gospodarzy. Ponadto, obserwacja pod mikroskopem elektronowym owych wirusów pozwoliła na scharakteryzowanie ich genomu jako dwuniciowego DNA i wykazano podobieństwo do dsDNA wirusów z rodzin *Siphoviridae* oraz *Myoviridae* (Tab. I) [4].

Analiza próbek lodu z morza Rossa wykazała podobną koncentrację wirusów do tej, którą określono w Arktycznym lodzie morskim [15, 16]. Obserwacje pod TEM (Transmission Electron Microscope) wykazały, że cząsteczki znajdujące się w badanym materiale były stosunkowo duże i złożone w większości z form o symetrii ikosaedralnej i najprawdopodobniej zakażały mikro-eukarioty [15, 16].

W wiecznie pokrytych lodem jeziorach Antarktycznych, które są najbardziej zdominowanymi przez mikroorganizmy ekosystemami, zagęszczenie wirusów było niższe [47], a mimo to ich liczba była wyższa, niż na innych obszarach słodko- i słonowodnych. Zaobserwowano, że populacje te wykazywały wysoką aktywność. Stwierdzono także, że większość z odkrytych wirusów miała materiał genetyczny w postaci dsDNA i symetrię ikosaedralną, i były one podobne do wirusów powszechnie występujących w warunkach umiarkowanych infekujących fotosyntezujące i nefotosyntezujące wiciowce [18].

### 5. Wirusy osadów dennych

Ze względu na ograniczone możliwości badania, głęboka podpowierzchniowa biosfera jest najmniej zbadanym i poznanym siedliskiem na Ziemi. Przypuszcza się jednak, że ogromna mikrobiologiczna biomasa zgromadzona na tych obszarach wpływa znacząco na cykle biogeochemiczne na planecie [6]. Program ODP (Ocean Drilling Programme) ujawnił, że beztlenowe tereny podwodne (> 1000 m p.p.m.), gdzie panuje wysokie ciśnienie hydrostatyczne, warunki niemalże całkowicie

beztlenowe oraz bardzo niska zawartość materii organicznej, zasiedlone są przez chemolitotrofy. Stwierdzono, że ilość bakterii na głębokościach ok. 1000 m p.p.m. przekracza  $10^5$  komórek w  $1 \text{ cm}^3$  [28, 29]. Natomiast obecność wirusów w odmętach wodnych została zbadana po wykonaniu odwiertów na głębokości 105,1 i 118,2 m p.p.m. w pobliżu zachodniego wybrzeża Kanady [3]. Dzięki temu ujawniono w tym obszarze istnienie dużej liczby wirusów, a ponadto zaobserwowano, że zagęszczenie cząsteczek wirusowych zdawało się iść w parze z liczebnością populacji drobnoustrojów.

Wykazano, że z powodu braku na tak dużej głębokości zagrożeń dla bakterii w postaci organizmów eukariotycznych, jedynym źródłem śmiertelności komórek bakteryjnych są bakteriofagi. Z tego powodu, biorąc pod uwagę wysoką korelację w liczebności drobnoustrojów i wirusów, można stwierdzić, że te drugie wywierają szczególnie wpływ na podwodne procesy biogeochemiczne [3].

## 6. Wirusy terenów wysokim stopniu zasolenia

Woda jest nadrzędnym czynnikiem warunkującym możliwości wzrostu, rozwoju i zachodzenia wszelkich procesów metabolicznych w komórkach. Wysoka koncentracja jonów w wodzie wpływa na jej potencjał osmotyczny, przez co na terenach o wysokim stopniu zasolenia płynna woda nie jest w pełni dostępna dla mikroorganizmów. Tereny te są powszechne w gorących i suchych obszarach na całym świecie i różnią się od siebie składem jonowym. Pomimo trudnych warunków tam panujących, wody o wysokim stopniu zasolenia mogą być doskonałym ekosystemem dla wielu gatunków halofili (archeonów, zielonych alg, cyjanobakterii oraz innych mikroorganizmów). Organizmy te doskonale radzą sobie ze stresem osmotycznym, a nawet wytrzymują w nasyconych roztworach NaCl [23]. Zarejestrowano także obecność wirusów Morzu Martwym, gdzie występuje wysokie stężenie soli wapnia i magnezu [26].

### 6.1. Wirusy w jeziorach słonowodnych

Wody słone stanowią ważny rezerwuuar wirusów, które wykazują ogromne zróżnicowanie pod kątem genetycznym. Podczas badania Morza Martwego, w którym stężenie magnezu przekracza 50%, odkryto zaskakująco dużą koncentrację wirusów osiągającą nawet  $10^7$  cząsteczek w 1 ml [26]. Wielkości ich genomów wahają się od 10 kbp do 533 kbp [42]. Analiza elektroforetyczna w polu pulsacyjnym wykazała, że struktury populacji wirusów zmieniają się w zależności od zasolenia wody, począwszy od słonej wody morskiej (40‰) do nasyconej solanki chlorku sodu (370‰). W gradiencie zasolenia od 40‰ do 220‰ wielkości genomów wirusowych zawierały się

w przedziale od 32 do 340 kbp. Przy zasoleniu wyższym niż 220‰ zakres ten wahał się od 10 do 189 kbp. Podczas badań zauważono również zmiany w populacjach organizmów prokariotycznych w zależności od stopnia zasolenia środowiska. Może to oznaczać, że struktura społeczności wirusów jest w dużym stopniu uzależniona od rozwoju kultur bakterii [42].

Bezpośrednie obserwacje pod mikroskopem elektronowym pozwoliły zaobserwować zróżnicowanie populacji wirusów, wśród których dominowały wirusy z rodziny *Fuselloviridae* [26]. Wszystkie wirusy wyizolowane z tego typu siedlisk zakażają archeony, a większość z nich ma morfologię głowa-ogon, przypominającą bakteriofagi należące do 3 głównych rodzin: *Myoviridae*, *Siphoviridae* oraz *Podoviridae*, co podkreśla tym samym niezwykle podobieństwo wirusów archeonów i bakterii.

Scharakteryzowano także 3 wirusy, które wykazywały morfotypy bliżej spokrewnione z hipertermofilowymi archeowirusami. Odkryte wirusy to His1 oraz His2 należące do rodziny *Yueviridae* oraz SH1 z rodziny *Sphaerolipoviridae* (Tab. I). Takie różnice w bezpośrednich obserwacjach w warunkach *in vitro* sugerują, że opisane wirusy z tego środowiska nie odzwierciedlają rzeczywistej różnorodności morfologicznej *in situ*. Może to być spowodowane faktem, że komórki gospodarzy łatwo izolowane i hodowane w laboratoriach, nie są dominującymi gatunkami występującymi naturalnie w środowiskach o wysokim zasoleniu [7].

Wszystkie opisane dotychczas wirusy posiadają genomy zbudowane z liniowego dsDNA. Poprzez przeprowadzenie sekwencjonowania materiału genetycznego wykazano istnienie jedynie niewielkich podobieństw (mniej niż 10%) z sekwencjami pochodzącymi od bakterii, bakteriofagów i wirusów eukariotycznych. Zjawisko to może być wynikiem zastosowanej metody izolacji uwarunkowanej tym konkretnym ekosystemem [7]. Jak wykazano na przykładzie wirusów  $\phi$ Ch1 oraz  $\phi$ H z rodziny *Myoviridae* (Tab. I), istnieją silne związki genetyczne między różnymi halowirusami. Wymienione wirusy mają do 97% identyczności nukleotydów, podczas gdy ich gospodarze wyizolowani z odrębnych i odległych geograficznie miejsc zdecydowanie różnią się od siebie [20, 45]. Halowirusy HF1 oraz HF2 należące do rodziny *Myoviridae* (Tab. I) mają genomy, których podobieństwo w pierwszych 60% sekwencji wynosi do 99%. Pozostała część genomu wykazuje rozbieżność (87% identyczności) spowodowaną zmianami bazowymi i zdarzeniami wstawiania lub usuwania nukleotydów. Ta znacząca wariacja w podobieństwie sekwencji może być spowodowana niedawnymi rekombinacjami między tymi dwoma wirusami lub innym halowirusem, podobnym do HF. Zjawisko rekombinacji genetycznej zdaje się być powszechne wśród wirusów wód o wysokim stopniu zasolenia [1, 46].

## 6.2. Wirusy w jeziorach alkalicznych

Jeziora sodowe wykazują podobieństwo składu chemicznego do wód słonowodnych, jednak różnią się one wysokim poziomem minerałów węglanowych w skałach je otaczających, które utrzymują pH w jeziorach alkalicznych na poziomie 10–12. Ponadto jony  $\text{Ca}^{2+}$  oraz  $\text{Mg}^{2+}$  są praktycznie nieobecne, ponieważ wytrącają się jako osad przy wysokim pH i stężeniu węglanów [23].

W przeszłości odnotowano w tych ekstremalnych środowiskach obecność licznych populacji bakteryjnych, a także zaobserwowano ich zmiany sezonowe. Należy jednak wspomnieć, że przed 2004 r. nie pojawiły się wzmianki o występowaniu na tych terenach wirusów, natomiast pierwsze badania ich populacji przeprowadzono w jeziorze Mono [17]. Jest to wysoko alkaliczne (pH ~ 10) słonowodne jezioro znajdujące się w USA w stanie Kalifornia, na wschód od Parku Narodowego Yosemite. W tym konkretnym środowisku określona ilość wirusów przekracza ich liczbę występującą we wszystkich zbadanych dotychczas naturalnych ekosystemach wodnych. Elektroforeza w polu pulsacyjnym wykazała długość genomów wirusowych dsDNA zawartych w zakresie od 14 do 400 kpz, przy czym większość z badanych wirusów posiadała genom o długości 30–60 kpz [17]. Jak dotychczas, jedynie jeden z tej populacji wirusowej, lityczny fag Mono1 z rodziny *Siphoviridae* (Tab. I), został wyizolowany i częściowo scharakteryzowany. Odkryto, że szczep ten infekuje bakterię blisko spokrewnioną z *Idiomarina baltica*, wyizolowaną z wód powierzchniowych środkowego Bałtyku. Użycie genomu dsDNA wirusa Mono1 jako sondy w procesie hybrydyzacji, wykazało również sezonowe zmiany w występowaniu tego wirusa [21].

## 7. Podsumowanie

Przez lata stan wiedzy na temat wirusów zasiedlających ekstremalne środowiska był znikomy. Powody takiego stanu rzeczy były różne, a zdecydowanie istotną kwestią okazała się być niedostępność i nieprzystępność samych środowisk. Jednak ostatnio wraz z rozwojem technologicznym wiedza o ekstremofilach stale się poszerza.

Wszystkie wirusy odkryte i wyizolowane ze środowisk ekstremalnych posiadają materiał genetyczny w formie dwuniciowej spirali DNA o średnim stopniu złożoności i długości. Można więc wnioskować, że występowanie materiału genetycznego w takiej formie jest konieczne do przeżycia wirusów w tak surowych warunkach. Nie ulega wątpliwości, że dsDNA jest najstabilniejszą i najbardziej odporną na działanie czynników zewnętrznych formą kwasu nukleinowego. Również długość genomu wydaje się być idealnie

dostosowana do tego, żeby móc unikać zniszczenia. Tłumaczy to również dlaczego nie wyizolowano dotąd żadnego RNA wirusa, bowiem kluczowy pozostaje fakt, że zarówno jedno- jak i dwuniciowy RNA jest strukturą bardzo delikatną. Należy wspomnieć, że jedynie niecałe 15% sekwencji wyodrębnionych wśród ekstremofilnych wirusów odpowiada tym wcześniej znanym. Ilość poznanych białek wytwarzanych przez ekstremofile jest niewielka, co oznacza, że potencjalnie istnieją setki peptydów o nieznanym dotychczas funkcjach, a część z nich może być również analogami białek już znanych. Potwierdza to tezę, że wirusy stanowią jeden z największych rezerwuarów różnorodności genetycznej na naszej planecie, co może wpływać na to, w jakim środowisku rozwijają się konkretne typy fagów. Niestety, obecny stan wiedzy nie odpowiada na pytania, jak te organizmy powstały, jaki jest kierunek ich ewolucji oraz jak wygląda dynamika ich populacji. Do tego niezbędne będą dalsze odkrycia oraz badania prowadzone na wirusach siedlisk ekstremalnych.

Mając na uwadze znaną historię ewolucji Ziemi można przypuszczać, że ekstremofile były jednymi z pierwszych form życia komórkowego. Dlatego badanie tych organizmów jest niezwykle ważne i może rzucić nowe światło na ewolucję zarówno komórkowych form życia, jak i na historię ewolucji cząsteczek „nieożywionych”, takich jak kwasy nukleinowe. Dlatego, biorąc pod uwagę hipotezę [11], według której wirusy odgrywają kluczową rolę zarówno w ewolucji RNA do DNA, jak i genezie trzech obecnie znanych domen życia, badania nad wirusami wydają się być nie tylko ciekawe, ale również niezbędne do poznania i zrozumienia narodzin życia na Ziemi, czy analizy pierwotnych procesów biologicznych. Równie istotnym znaczeniem tych rozważań może okazać się ich kluczowy udział w opisanie procesu ewolucji samych wirusów.

## Piśmiennictwo

1. Bath C., Cukalac T., Porter K., Dyall-Smith M.L.: His1 and His2 are distantly related, spindle-shaped haloviruses belonging to the novel virus group, Salterprovirus. *Virology*, **350**, 228–239 (2006)
2. Berliner A.J., Mochizuki T., Stedman K.M.: Astrovirology: viruses at large in the universe. *Astrobiology*, **18**, 207–223 (2018)
3. Bird D.F., Juniper S.K., Ricciardi-Rigault M., Martineu P., Prairie Y.T., Calvert S.E.: Subsurface viruses and bacteria in Holocene/Late Pleistocene sediments of Saanich Inlet, BC: ODP Holes 1033B and 1034B, Leg 169S. *Mar. Geol.* **174**, 227–239 (2001)
4. Borriss M., Helmke E., Hanschke R., Schweder T.: Isolation and characterization of marine psychrophilic phage-host systems from Arctic sea ice. *Extremophiles*, **7**, 377–384 (2003)
5. Breitbart M., Wegley L., Leeds S., Schoenfeld T., Rohwer F.: Phage community dynamics in hot springs. *Appl. Environ. Microb.* **70**, 1633–1640 (2004)
6. Danovaro R., Dell'Anno A., Trucco A., Serresi M., Vanucci S.: Determination of Virus Abundance in Marine Sediments. *Appl. Environ. Microbiol.* **67**, 1384–1387 (2001)

7. Dyal-Smith M., Tang S.L., Bath C.: Haloarchaeal viruses: how diverse are they? *Res. Microbiol.* **154**, 309–313 (2003)
8. Efenberger M., Brzezińska-Błaszczak E., Wódcz K.: Archeony – drobnoustroje ciągle nieznanne. *Post. Hig. Med. Dosw.* **68**, 1452–1463 (2014)
9. Evans R.D., Johansen J.R.: Microbiotic crusts and ecosystem processes. *Crit. Rev. Plant Sci.* **18**, 182–225 (1999)
10. Fancello L., Trape S., Robert C., Boyer M., Popgeorgiev N., Raoult D., Desnues C.: Viruses in the desert: a metagenomic survey of viral communities in four perennial ponds of the Mauritanian Sahara. *ISME J.* **7**, 359–369 (2013)
11. Forterre P.: Three RNA cells for ribosomal lineages and three DNA viruses to replicate their genomes: a hypothesis for the origin of cellular domain. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **103**, 3669–3674 (2006)
12. Fuhrman J.A.: Marine viruses and their biogeochemical and ecological effects. *Nature*, **399**, 541–548 (1999)
13. Geslin C., Le Romancer M., Gaillard M., Erauso G., Prieur D.: Observation of virus-like particles in high temperature enrichment cultures from deep-sea hydrothermal vents. *Res. Microbiol.* **154**, 303–307 (2003)
14. Geslin C., Le Romancer M., Erauso G., Gaillard M., Perrot G., Prieur D.: PAV1, the first virus-like particle isolated from a hyperthermophilic euryarchaeote, “*Pyrococcus abyssi*”. *J. Bacteriol.* **185**, 3888–3894 (2003)
15. Gowing M.M.: Large viruses and infected microeukaryotes in Ross Sea summer pack ice habitats. *Mar. Biol.* **142**, 1029–1040 (2003)
16. Gowing M.M., Garrison D.L., Gibson A.H., Krupp J.M., Jeffries M.O., Fritsen C.H.: Bacterial and viral abundance in Ross Sea summer pack ice communities. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **279**, 3–12 (2004)
17. Jiang S., Steward G., Jellison R., Chu W., Choi S.: Abundance, distribution and diversity of viruses in alkaline hypersaline Mono Lake, California. *Microb. Ecol.* **47**, 9–17 (2004)
18. Kepner R.L., Wharton R.A. Jr., Suttle C.A.: Viruses in Antarctic lakes. *Limnol. Oceanogr.* **43**, 1754–1761 (1998)
19. Khayat R., Tang L., Larson E.T., Lawrence C.M., Young M., Johnson J.E.: Structure of an archaeal virus capsid protein reveals a common ancestry to eukaryotic and bacterial viruses. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **102**, 1894–18949 (2005)
20. Klein R., Baranyi U., Rössler N., Greineder B., Scholz H., Witte A.: Natrialba magadii virus  $\phi$ Ch1: first complete nucleotide sequence and functional organization of a virus infecting a haloalkalophilic archaeon. *Mol. Microbiol.* **45**: 851–886 (2002)
21. Le Romancer M., Gaillard M., Geslin C., Prieur D.: Viruses in extreme environments. *Rev. Environ. Sci. Bio.* **6**, 17–31 (2007)
22. Leulliot N., Quevillon-Cheruel S., Graille M., Geslin C., Flament D., Romancer M., van Tilbeurgh H.: Crystal Structure of PAV1-137: A Protein from the Virus PAV1 That Infects *Pyrococcus abyssi*. *Archaea*, DOI: 10.1155/2013/568053 (2013)
23. Madigan M.T., Martinko J.M., Parker J.: *Extremely halophilic Archaea (w) Brock biology of microorganisms Tenth edition*, red. Carlson G., Snavely S.L., Wechsler D.A., Schiaparelli K. Prentice Hall, USA, 2003, s. 448–452
24. Maranger R., Bird D.F., Juniper S.K.: Viral and bacterial dynamics in Arctic sea ice during the spring algal bloom near Resolute, N.W.T., Canada. *Mar. Ecol. Prog. Ser.* **111**, 121–127 (1994)
25. Niedźwiedzka P., Deptuła W.: Drobnoustroje żyjące w nietypowych warunkach. *Wszechświat*, **108**, 225–227 (2007)
26. Oren A., Bratbak G., Heldal M.: Occurrence of virus-like particles in the Dead Sea. *Extremophiles*, **1**, 143–149 (1997)
27. Ortmann A.C., Suttle C.A.: High abundances of viruses in deep-sea hydrothermal vent system indicate viral mediated microbial mortality. *Deep-sea Res. Pt I*, **52**, 1515–1527 (2005)
28. Parkes R.J., Cragg B.A., Bale S.J., Getliff J.M., Goodman K., Rochelle P.A., Fry J.C., Weightman A.J., Harvey S.M.: Deep bacterial biosphere in Pacific ocean sediments. *Nature*, **371**, 410–413 (1994)
29. Parkes R.J., Cragg B.A., Wellsbury.: Recent studies on bacterial populations and processes in subseafloor sediments: a review. *Hydrogeol. J.* **8**, 11–28 (2000)
30. Prangishvili D., Garrett R.A.: Exceptionally diverse morphotypes and genomes of crenarchaeal hyperthermophilic viruses. *Biochem. Soc. T.* **32**, 204–208 (2004)
31. Prangishvili D., Garrett R.A.: Viruses of hyperthermophilic Crenarchaea. *Trends Microbiol.* **13**, 535–542 (2005)
32. Prangishvili D., Garrett R.A., Koonin E.V.: Evolutionary genomics of archaeal viruses: Unique viral genomes in the third domain of life. *Virus Res.* **117**, 52–67 (2006)
33. Prasad B.V., Schmid M.F.: Principles of virus structural organization. *Adv. Exp. Med. Biol.* **726**, 17–47 (2012)
34. Prieur D.: Microbiology of deep-sea hydrothermal vents. *Trends. Biotechnol.* **15**, 242–244 (1997)
35. Prigent M., Leroy M., Confalonieri F., Dutertre M., DuBow M.S.: A diversity of bacteriophage forms and genomes can be isolated from the surface sands of the Sahara Desert. *Extremophiles*, **9**, 289–296 (2005)
36. Quemin E.R.J., Pietilä M.K., Oksanen H.M., Forterre P., Rijpstra W.I.C., Schouten S., Bamford D.H., Prangishvili D., Krupovic M.: Sulfolobus Spindle-Shaped Virus 1 Contains Glycosylated Capsid Proteins, a Cellular Chromatin Protein, and Host-Derived Lipids. *J. Virol.* **89**, 11681–11691 (2015)
37. Rachel R., Bettstetter M., Hedlund B.P., Häring M., Kessler A., Stetter K.O., Prangishvili P.: Remarkable morphological diversity of viruses and virus-like particles in hot terrestrial environments. *Arch. Virol.* **147**, 2419–2429 (2002)
38. Rice G., Stedman K., Snyder J., Wiedenheft B., Willits D., Brumfield S., McDermott T., Young M.: Viruses from extreme thermal environments. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **98**, 13341–13345 (2001)
39. Rice G., Tang L., Stedman K., Roberto F., Spuhler J., Gillitzer E., Johnson J.E., Douglas T., Young M.: The structure of a thermophilic archaeal virus shows a double-stranded viral capsid type that spans all domains of life. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **101**, 7716–7720 (2004)
40. Rohwer F.: Global phage diversity. *Cell*, **113**, 141 (2003)
41. Rothschild L.J., Mancinelli R.L.: Life in extreme environments. *Nature*, **409**, 1092–1101 (2001)
42. Sandaa R.A., Skjoldal E.F., Bratbak G.: Virioplankton community structure along a salinity gradient in a solar saltern. *Extremophiles*, **7**, 347–351 (2003)
43. Staley J.T., Gosink J.J.: Poles apart: biodiversity and biogeography of sea ice bacteria. *Annu. Rev. Microbiol.* **53**, 189–215 (1999)
44. Suttle C.A.: Viruses in the sea. *Nature*, **437**, 356–361 (2005)
45. Tang S.L., Nuttall S., Ngui K., Fisher C., Lopez P., Dyal-Smith M.: HF2: a double-stranded DNA tailed haloarchaeal virus with a mosaic genome. *Mol. Microbiol.* **44**, 283–296 (2002)
46. Tang S-L., Nuttall S., Dyal-Smith M.: Haloviruses HF1 and HF2: evidence for a recent and large recombination event. *J. Bacteriol.* **186**, 2810–2817 (2004)
47. Thomas D.N., Dieckmann G.S.: Antarctic sea ice-a habitat for extremophiles. *Science*, **295**, 641–644 (2002)
48. Weinbauer M.G.: Ecology of prokaryotic viruses. *FEMS Microbiol. Rev.* **28**, 127–18 (2004)
49. Woese C.R., Kandler O., Wheelis M.L.: Towards a natural system of organisms: Proposal for the domains Archaea, Bacteria, and Eucarya. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, **87**, 4576–4579 (1990)
50. Wommack K.E., Colwell R.R.: Virioplankton: viruses in aquatic ecosystems. *Microbiol. Mol. Biol. R.* **64**, 69–114 (2000)